

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 109**

51 Int. Cl.:

G01N 21/47 (2006.01)

A61B 3/10 (2006.01)

A61B 3/107 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

G01N 21/63 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.02.2015 PCT/EP2015/052079**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.08.2016 WO16124216**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2015 E 15703761 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 3254084**

54 Título: **Instrumento óptico para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.05.2019

73 Titular/es:
NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es:
VOGLER, KLAUS y
WUELLNER, CHRISTIAN

74 Agente/Representante:
LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 714 109 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Instrumento óptico para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular

Antecedentes

Campo de la Descripción

- 5 La presente descripción se refiere a instrumentos y métodos espectroscópicos, y más específicamente, a un instrumento óptico para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 Se han desarrollado diversos instrumentos de diagnóstico y clínicos para la formación de imágenes *in vivo* de problemas biológicos y, en particular, para la formación de imágenes de estructuras en un ojo humano. Específicamente, los instrumentos ópticos se utilizan para medir características geométricas y ópticas de diferentes secciones del ojo humano. Las características geométricas y ópticas proporcionadas por tales análisis pueden permitir diversos grados de modelado biomecánico o fisiológico de un ojo individual de un paciente en un esfuerzo por diagnosticar una condición de salud oftalmológica y desarrollar un plan de tratamiento adecuado.

- 15 El queratocono es una enfermedad degenerativa del ojo humano, que se caracteriza por un adelgazamiento no inflamatorio y un aumento de la curvatura en la córnea central o paracentral, dando como resultado una córnea cónica que caracteriza a la enfermedad. Los cambios estructurales en la córnea a medida que avanza el queratocono causan un deterioro significativo de la visión en un paciente. Los cambios estructurales de la córnea causados por el queratocono pueden complicar además ciertas cirugías de corrección de la visión con láser, tal como la cirugía de queratomileusis *in situ* asistida por láser (LASIK) o la cirugía de queratectomía fotorrefractiva (PRK), debido al posible aumento de los riesgos de la ectasia corneal (o adelgazamiento) postquirúrgica.

- 20 El deterioro visual causado por el queratocono se puede corregir hasta un grado utilizando gafas especialmente adaptadas o lentes de contacto corneoesclerales. Sin embargo, tales medidas, pueden no ser eficaces cuando el queratocono avanza a una etapa tardía de la patogénesis. Para el queratocono en etapa avanzada, se realiza un tratamiento de reticulación corneal, que puede detener o al menos desacelerar la patogénesis, aunque la rehabilitación visual completa no está actualmente pronosticada.

- 25 Además del queratocono, otros tipos de degeneración corneal pueden afectar a la estabilidad biomecánica de la córnea humana. Por ejemplo, la degeneración corneal marginal pelúcida (DMP), también conocida como queratotoro, es una afección corneal degenerativa no inflamatoria, que se caracteriza típicamente por una ectasia clara, bilateral en la región inferior y periférica de la córnea. En particular, los pacientes con DMP pueden presentar un grosor normal en el centro de la córnea con un epitelio central intacto, mientras que presentan una banda periférica de adelgazamiento en la córnea inferior. La porción de la córnea que está inmediatamente adyacente al limbo se puede salvar de la DMP, y típicamente incluye una tira de unos pocos milímetros. Como resultado adicional de la DMP, la capa de Bowman de la córnea puede estar ausente, ser irregular o tener áreas rotas.

- 30 Se han realizado exámenes ópticos de las propiedades viscoelásticas de los tejidos oculares, tales como la córnea y el cristalino del ojo, utilizando la dispersión Brillouin (BS), que se basa en las variaciones de densidad de masa dependientes de la posición dentro de un material muestreado para dispersar la luz coherente incidente por medio de una interacción fonón-fotón. Al analizar espectroscópicamente un haz de luz dispersado Brillouin del tejido ocular, se pueden determinar ciertas propiedades biomecánicas del tejido ocular, tal como una propiedad viscoelástica del tejido ocular analizado. La determinación de las propiedades viscoelásticas del tejido ocular utilizando la dispersión Brillouin puede ser particularmente útil en relación con los tratamientos de reticulación del queratocono de la córnea utilizando luz ultravioleta (UV), con el fin de sondear y documentar un impacto cualitativo real del tratamiento de reticulación sobre las propiedades biomecánicas relevantes de la córnea, tales como dureza y rigidez.

- 35 Además, la bio-estructura fina de la córnea se puede examinar utilizando microscopía multifotónica para generar ciertas imágenes de tejido ocular. Durante la formación de imágenes multi-fotónicas, diferentes estructuras en la córnea se excitan a través de una absorción multifotónica y pueden experimentar autofluorescencia. Alternativamente, ciertas estructuras no isotrópicas, tales como las fibrillas de colágeno en la córnea, pueden usarse para una generación de segundo armónico (SHG) o una generación de tercer armónico (THG) de longitudes de onda de un haz de muestra a través de una interacción no lineal. De esta manera, las señales de SHG o THG pueden indicar la posición y distribución de las diversas estructuras en la córnea.

- 40 En particular, las señales de SHG se han asociado con la posición y distribución de las fibrillas en la córnea. La disposición y orientación de las fibrillas corneales, así como su posición y densidad, pueden correlacionarse con las propiedades ópticas y mecánicas de la córnea en las regiones analizadas utilizando señales de SHG. Las propiedades ópticas pueden incluir transparencia y dispersión, mientras que las propiedades mecánicas pueden incluir propiedades elasto-mecánicas, tales como la resistencia. Se sabe que en estadios avanzados de enfermedades oculares, tal como el queratocono y la distrofia corneal, los cambios en las propiedades ópticas y mecánicas del tejido ocular afectado son detectables en la estructura gruesa de la córnea. Por lo tanto, el análisis

que utiliza señales de SHG puede ser un método adecuado para examinar la estructura fina de la córnea y puede permitir la detección precoz de la patogénesis de la enfermedad ocular. Adicionalmente, las señales de SHG se generan *in vivo* a partir de fibrillas corneales durante ciertas cirugías LASIK con láseres de femtosegundos (fs) y pueden proporcionar información sobre la direccionalidad y la posición de las incisiones LASIK.

- 5 El documento WO 2012/149570 A1 describe métodos y disposiciones para obtener información y proporcionar análisis para tejidos biológicos. El documento US 2005/0140982 A1 se refiere a un método y un aparato para realizar una tomografía de coherencia óptica de segundo armónico. En el documento US 2014/0367579 A1, se ha descrito un aparato de medición y un sistema de obtención de información de muestra. En el documento US 6.795.199 B2, se han tratado un método de tiempo de vuelo y aparato para medición de las características ópticas de un conjunto de capas delgadas superpuestas dentro de un objeto.

Resumen

15 En un aspecto, un método descrito para realizar el diagnóstico biomecánico de la enfermedad ocular incluye generar un primer haz de muestra y un segundo haz de muestra que comparten un punto de inicio óptico y propagar el primer haz de muestra y el segundo haz de muestra a una muestra de tejido biológico de manera confocal a una posición focal en la muestra de tejido biológico. El método incluye la detección de un primer haz de señal que comprende primeros fotones retrodispersados por el primer haz de muestra desde la posición focal. El primer haz de señal se detecta utilizando un detector de dispersión Brillouin. El método también incluye la detección de un segundo haz de señal que comprende segundos fotones retrodispersados por el segundo haz de muestra desde la posición focal. El segundo haz de señal se detecta utilizando un detector de generación de segundo armónico (SHG).

20 En cualquiera de las realizaciones descritas, el método puede incluir además la determinación, a partir del primer haz de señal, de una propiedad elastomecánica de la muestra de tejido biológico en la posición focal, la determinación, a partir del primer haz de señal, de una propiedad viscoelástica de la muestra de tejido biológico en la posición focal, y la determinación, a partir del segundo haz de señal, de una indicación de una estructura morfológica de la muestra de tejido biológico en la posición focal.

25 En cualquiera de las realizaciones descritas del método, la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal puede incluir la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a lo largo de una trayectoria óptica común.

30 En cualquiera de las realizaciones descritas del método, el primer haz de muestra puede ser generado utilizando un láser de onda continua de banda estrecha, el segundo haz de muestra puede ser generado utilizando un láser de fibra de femtosegundo, el detector de dispersión Brillouin puede incluir un espectrómetro y el detector de SHG puede incluir un fotocatodo sensible al segundo haz de señal.

35 En cualquiera de las realizaciones descritas del método, el primer haz de señal puede incluir fotones dispersados de Rayleigh y fotones dispersados Brillouin desde la posición focal, mientras que el segundo haz de señal puede incluir fotones en media longitud de onda de una longitud de onda del segundo haz de muestra. En cualquiera de las realizaciones descritas del método, la muestra de tejido biológico puede ser tejido biológico *in vivo* que comprende una porción de un ojo humano.

40 En cualquiera de las realizaciones descritas del método, la propagación del primer haz de muestra y el segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal puede incluir la variación de una posición axial de la posición focal dentro de la muestra de tejido biológico a lo largo de un primer eje paralelo al primer haz de muestra y al segundo haz de muestra. En cualquiera de las realizaciones descritas del método, la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal puede incluir la variación de una posición lateral de la posición focal dentro de la muestra de tejido biológico a lo largo de al menos uno de entre un segundo eje y un tercer eje que son perpendiculares al primer eje. En cualquiera de las realizaciones descritas del método, la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal puede incluir el escaneado de la muestra de tejido biológico para generar datos de imagen utilizando el segundo haz de señal. En el método, el primer haz de muestra y el segundo haz de muestra pueden dirigirse a diferentes posiciones comunes en la muestra de tejido biológico. En el método, el escaneado puede incluir la variación de al menos una de entre la posición axial de la posición focal y la posición lateral de la posición focal.

50 En otro aspecto descrito, un instrumento óptico para realizar un diagnóstico biomecánico de la enfermedad ocular incluye una primera fuente de luz para generar un primer haz de muestra, y una segunda fuente de luz para generar un segundo haz de muestra. El instrumento óptico incluye además un primer espejo parcial para superponer el primer haz de muestra y el segundo haz de muestra para generar un haz de muestra combinado. El instrumento óptico también incluye un detector de dispersión Brillouin que incluye un espectrómetro para recibir un primer haz de señal que comprende unos primeros fotones retrodispersados por el primer haz de muestra desde una posición focal en una muestra de tejido biológico. El instrumento óptico incluye aún además un detector de generación de segundo armónico (SHG) que incluye un fotocatodo sensible a un segundo haz de señal que comprende segundos fotones retrodispersados por el segundo haz de muestra desde la posición focal.

En cualquiera de las realizaciones descritas, el instrumento óptico puede incluir además un segundo espejo parcial para propagar el haz de muestra combinado a la posición focal de manera confocal, y propagar un haz de señal combinado que comprende el primer haz de señal y el segundo haz de señal desde la posición focal de manera confocal.

- 5 En cualquiera de las realizaciones descritas, el instrumento óptico puede incluir además un elemento de enfoque para variar una posición axial de la posición focal en la muestra de tejido biológico de manera confocal a lo largo de un primer eje paralelo al haz de muestra combinado. En cualquiera de las realizaciones descritas, el instrumento óptico puede incluir además un elemento de escaneado para variar una posición lateral de la posición focal en la muestra de tejido biológico de manera confocal a lo largo de al menos uno de entre un segundo eje y un tercer eje que son perpendiculares al primer eje. En el instrumento óptico, al menos uno del elemento de enfoque y del elemento de escaneado puede ser para escanear la muestra de tejido biológico para generar datos de imagen utilizando el segundo haz de señal. En el instrumento óptico, tanto el primer haz de muestra como el segundo haz de muestra pueden ser dirigidos a diferentes posiciones comunes en la muestra de tejido biológico. En el instrumento óptico, al menos uno del elemento de enfoque y del elemento de escaneado puede estar para variar al menos una de entre la posición axial de la posición focal y de la posición lateral de la posición focal.

En cualquiera de las realizaciones descritas del instrumento óptico, la primera fuente de luz puede incluir un láser de onda continua de banda estrecha, la segunda fuente de luz puede incluir un láser de fibra de femtosegundo, el detector de dispersión Brillouin puede incluir un espectrómetro y el detector de SHG puede incluir un fotocátodo sensible al segundo haz de señal.

- 20 En cualquiera de las realizaciones descritas del instrumento óptico, el primer haz de señal puede incluir fotones dispersados de Rayleigh y fotones dispersados Brillouin desde la posición focal, mientras que el segundo haz de señal puede incluir fotones en media longitud de onda de una longitud de onda del segundo haz de muestra. En el instrumento óptico, la muestra de tejido biológico puede ser tejido biológico *in vivo* que comprende una porción de un ojo humano.
- 25 En cualquiera de las realizaciones descritas del instrumento óptico, el detector de dispersión Brillouin puede ser para determinar, a partir del primer haz de señal, una propiedad elasto-mecánica del tejido biológico en la posición focal, y determinar, a partir del primer haz de señal, una propiedad viscoelástica del tejido biológico en la posición focal. En cualquiera de las realizaciones descritas del instrumento óptico, el detector de SHG puede estar para determinar, a partir del segundo haz de señal, una indicación de una estructura morfológica de la muestra de tejido biológico en la posición focal.

Breve descripción de los dibujos

Para una comprensión más completa de la presente invención y sus características y ventajas, se hace referencia a continuación a la siguiente descripción, tomada junto con los dibujos adjuntos, en los que:

- 35 La fig. 1 es un diagrama de bloques de elementos seleccionados de una realización de un instrumento óptico para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular;

La fig. 2 es un diagrama de flujo de elementos seleccionados de un método para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular;

La fig. 3 es un diagrama de flujo de elementos seleccionados de un método para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular; y

- 40 La fig. 4 es un diagrama de bloques de elementos seleccionados de una realización de un sistema de tratamiento señales para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular.

Descripción de realización o realizaciones particulares

- 45 En la siguiente descripción, se exponen detalles a modo de ejemplo para facilitar la explicación del objeto descrito. Sin embargo, debería ser evidente para un experto en este campo, que las realizaciones descritas son ejemplares y no exhaustivas de todas las realizaciones posibles.

- 50 Como se usa en la presente memoria, una forma con guión de un número de referencia se refiere a un caso específico de un elemento y la forma sin guión del número de referencia se refiere al elemento colectivo. Así, por ejemplo, el dispositivo '12-1' se refiere a un caso de una clase de dispositivo, que puede denominarse colectivamente como dispositivos '12' y cualquiera de los cuales se puede denominarse genéricamente como un dispositivo '12'.

Para la detección precoz de una enfermedad ocular resultante una degeneración corneal que afecta a la estabilidad biomecánica de la córnea humana, tal como el queratocono, puede ser deseable analizar físicamente la córnea utilizando métodos de examen óptico que sean adecuados para un diagnóstico fiable del inicio de la patogénesis de varias enfermedades oculares. Los métodos de examen óptico deseables pueden permitir la detección de la

degeneración corneal antes de que surjan los cambios estructurales macroscópicos de la córnea clínicamente manifestados.

5 Típicamente, diferentes métodos para el examen óptico del tejido ocular, tal como la dispersión Brillouin y la formación de imágenes multifotónica, se realizan por separado de una manera espacialmente no correlacionada con respecto a las estructuras en el tejido ocular. Los métodos de examen óptico separados pueden ser un factor restrictivo para comprender y caracterizar mejor las propiedades físicas del tejido ocular en muchas aplicaciones de diagnóstico y clínicas.

10 Así, métodos de examen óptico diferentes y espacialmente no correlacionados pueden limitar el análisis y la caracterización de las estructuras en el tejido ocular en muchas aplicaciones de diagnóstico y clínicas. En la siguiente descripción, se describe un sistema óptico para una enfermedad ocular biomecánica que puede alcanzar una correlación espacialmente precisa de una señal de dispersión Brillouin y una señal de SHG del tejido ocular, incluyendo la córnea humana.

15 La córnea, o porciones estructurales individuales de la córnea, pueden caracterizarse como un material lineal elástico, homogéneo o isotrópico. La bio-estructura de la córnea incluye el epitelio corneal, la capa de Bowman (también conocida como membrana limitante anterior), el estroma corneal (también conocido como sustancia propia), la capa de Dua, la membrana de Descemet (también conocida como membrana limitante posterior) y el endotelio corneal. Para la etiología y durante la patogénesis de una enfermedad ocular corneal, los cambios de las propiedades biomecánicas de la córnea pueden considerarse muy relevantes para la detección de la enfermedad ocular.

20 Una propiedad biomecánica de un material, tal como la córnea humana, puede estar representada por una propiedad elastomecánica o una propiedad viscoelástica o una combinación de las mismas, y puede estar relacionada con la rigidez del material. Las propiedades biomecánicas se pueden caracterizar utilizando diferentes módulos.

25 La tensión se puede definir como una fuerza de restauración en un material causada por una fuerza de deformación dividida por un área sobre la cual se aplica la fuerza de restauración. La deformación se puede definir como una relación de un cambio en una dimensión mecánica de un material causado por la tensión con respecto a un estado original del material.

30 Un módulo longitudinal M (también conocido como un módulo de onda P o un módulo restringido) se utiliza para describir materiales homogéneos isotrópicos. El módulo M longitudinal se define como una relación de tensión axial a deformación axial en un estado de deformación uniaxial en el que todas las demás deformaciones no axiales son cero, un estado también denominado como deformación lateral cero.

35 El módulo E de Young (también denominado simplemente como módulo elástico) se utiliza para describir la elasticidad a tracción. La elasticidad a tracción de un material es una respuesta de deformación axial cuando se aplican fuerzas opuestas a lo largo de un eje. El módulo E de Young se define como una relación de tensión de tracción a deformación de tracción.

El primer parámetro de Lamé $\lambda_{\text{Lamé}}$ (en griego: lambda-Lamé) también se utiliza para describir la elasticidad a la tracción.

40 Un módulo G de cizalladura (también conocido como módulo de rigidez, μ , en griego: mu, o el segundo parámetro de Lamé) se utiliza para describir una respuesta de deformación de cizalladura de un material a volumen constante cuando se aplican fuerzas opuestas. El módulo G de cizalladura se define como la tensión de cizalladura sobre la deformación de cizalladura y puede utilizarse para derivar una viscosidad del material.

45 Un módulo K de compresibilidad se utiliza para describir una elasticidad volumétrica o una respuesta de deformación isotrópica de un material a una fuerza isotrópica, tal como la presión del gas. El módulo K de compresibilidad se define como la tensión volumétrica sobre la deformación volumétrica o como la inversa de la compresibilidad κ (en griego: kappa). El módulo K de compresibilidad es una extensión del módulo E de Young a tres dimensiones.

50 La relación ν de Poisson (en griego: nu, también conocida como número de Poisson) se utiliza para describir una respuesta de deformación de un material, cuando se comprime a lo largo de un primer eje, para expandirse en un segundo eje y un tercer eje, ambos perpendiculares al primer eje. La relación ν de Poisson se define como una relación negativa de deformación transversal a deformación axial o como una fracción de expansión dividida por una fracción de compresión.

Para un material elástico lineal isotrópico homogéneo, ciertas ecuaciones se utilizan para describir las relaciones entre los diversos módulos descritos anteriormente. Por ejemplo, el módulo K de compresibilidad, el módulo E de Young y el módulo G de cizalladura se relacionan con la relación ν de Poisson, como se indica en la Ecuación 1.

$$\nu = \frac{E}{2G} - 1 = \frac{3K-E}{6K} = \frac{3K-2G}{6K+2G} \quad \text{Ecuación 1}$$

También, el módulo K de compresibilidad, el módulo G de cizalladura y el módulo longitudinal M se relacionan como se indica en la Ecuación 2.

$$M = K + \frac{4G}{3} \quad \text{Ecuación 2}$$

5 Como se ha observado previamente, la dispersión Brillouin se puede emplear para medir una propiedad biomecánica del tejido ocular. En la dispersión Brillouin, una onda acústica, también denominada fonón, puede indicar variaciones de densidad de masa dependientes de la posición dentro de un material. Debido a las compresiones localizadas resultantes de la variación de la densidad de masa, una densidad óptica del material, también conocida como un índice de refracción, puede variar localmente. Las variaciones locales en la densidad óptica n pueden dar como resultado una variación de densidad óptica espacialmente periódica, que se comporta como un elemento de difracción para luz coherente que incide sobre el material. La dispersión Brillouin ocurre cuando la luz coherente interactúa con tal elemento de difracción siendo desviada o reflejada en el material. Ya que el fonón se está desplazando dentro del material a una velocidad dada, la luz desviada o reflejada desde el fonón es sometida a un desplazamiento Doppler en la frecuencia (o longitud de onda). En otras palabras, los fotones dispersados Brillouin tendrán una energía diferente a los fotones incidentes debido a un proceso de dispersión inelástica. El cambio en la energía del fotón se puede expresar como un cambio de frecuencia f (o longitud de onda λ), que se dan en la Ecuación 3.

$$f\lambda = \frac{c}{n} \quad \text{Ecuación 3}$$

20 En la Ecuación 3, c es la velocidad de la luz en el vacío y n es la densidad óptica del material no perturbado. La dispersión Brillouin da como resultado un desplazamiento de frecuencia f_B (o un desplazamiento de longitud de onda λ_B) que puede ser positivo o negativo con respecto a la frecuencia f (o a la longitud de onda λ) del fotón incidente. Por consiguiente, un fotón dispersado Brillouin de manera inelástica tendrá frecuencias posibles dadas por $f \pm f_B$ (o longitudes de onda posibles dadas por $\lambda \pm \lambda_B$). Un espectro de la luz dispersada Brillouin incluirá luz desviada o reflejada elásticamente, formando un pico de Rayleigh a la frecuencia f (o longitud de onda λ), junto con la luz dispersada Brillouin de manera inelástica, formando al menos un pico lateral adicional (también denominado como banda lateral). Cuando el pico lateral da como resultado un fotón dispersado con mayor energía que el fotón incidente, se puede observar un pico de Stokes en $f+f_B$ (o en $\lambda-\lambda_B$). Cuando el pico lateral da como resultado un fotón dispersado con menor energía que el fotón incidente, se puede observar un pico de anti-Stokes en $f-f_B$ (o en $\lambda+\lambda_B$).

En general, los fotones dispersados Brillouin cambiarán la dirección de propagación, de tal manera que el desplazamiento de frecuencia f_B de la luz dispersada Brillouin depende de un ángulo de dispersión θ entre el fotón incidente y el fotón dispersado Brillouin, como se indica en la Ecuación 4.

$$f_B = \pm \frac{2nV}{\lambda} \cos(\theta/2) \quad \text{Ecuación 4}$$

35 En la ecuación 4, n es la densidad óptica del material no perturbado, V es la velocidad del fonón en el material, λ es la longitud de onda del fotón incidente en el vacío, y θ es el ángulo de dispersión. Por definición, la dirección de propagación del fotón incidente es anti-paralela a la dirección de propagación del fotón dispersado Brillouin cuando θ es cero, de tal manera que el fotón incidente es normal a una superficie del material. En la ecuación 4, el resultado positivo (+) corresponde al pico de anti-Stokes Brillouin, mientras que el resultado negativo (-) corresponde al pico de Stokes Brillouin. Para longitudes de onda $|\lambda_B| \ll \lambda$, la ecuación 5 describe la relación entre f_B y λ_B .

$$|f_B| \approx \frac{|\lambda_B|}{\lambda^2} \quad \text{Ecuación 5}$$

Ya que el desplazamiento de frecuencia f_B depende del ángulo de dispersión θ , cada ángulo de dispersión θ se asocia con un desplazamiento de frecuencia f_B específico. Se obtiene un valor máximo o mínimo del

desplazamiento de frecuencia al establecer $\theta=0^\circ$ en la Ecuación 3, dando como resultado en la Ecuación 6, que corresponde a un haz de luz incidente normal sobre el material de dispersión Brillouin.

$$f_B = \pm \frac{2nV}{\lambda} \quad \text{Ecuación 6}$$

5 En el caso especial de $\theta=0^\circ$, el desplazamiento de frecuencia f_B puede denominarse como un desplazamiento Brillouin longitudinal.

Al analizar espectroscópicamente el haz de luz dispersado Brillouin, se pueden determinar ciertas propiedades biomecánicas del material de dispersión. Por ejemplo, un módulo M longitudinal de valor complejo depende de la velocidad del fonón V como se indica en la Ecuación 7.

$$M = M_1 + iM_2 = \rho V^2 + i\rho V^2 \left[\frac{\Delta f_B}{f_B} \right] \quad \text{Ecuación 7}$$

10 En la ecuación 7, ρ es una densidad de masa del material en el que se propaga el fonón, y Δf_B es el ancho de línea de la banda lateral de dispersión Brillouin.

15 El ancho de línea Δf_B corresponde al recíproco de una vida útil del fonón y caracteriza la atenuación del fonón (onda de sonido) durante la propagación a través del material. En una realización, el ancho de línea Δf_B puede medirse como el ancho total en la mitad máxima (FWHM) del pico de Stokes o de anti-Stokes Brillouin. En otras realizaciones, se puede utilizar otra definición adecuada de un ancho espectral que caracteriza el intervalo de frecuencia Δf_B . Por ejemplo, se puede asumir que una amplitud de todos los componentes espectrales es igual o mayor que una fracción especificada de un componente espectral que tiene una amplitud máxima.

20 Cuando el fotón dispersado Brillouin emerge en la dirección anti-paralela al fotón incidente, tal como cuando $\theta=0^\circ$, el módulo G de cizalladura será cero y el módulo longitudinal M será igual al módulo de compresibilidad, como es evidente de la Ecuación 2. En este caso, los valores M_1 y M_2 para el módulo longitudinal M de valor complejo vendrán dados respectivamente por las ecuaciones 8 y 9.

$$M_1 = \frac{\lambda^2 \rho}{4n^2} f_B^2 \quad \text{Ecuación 8}$$

$$M_2 = \frac{\lambda^2 \rho}{4n^2} f_B \Delta f_B \quad \text{Ecuación 9}$$

25 En la Ecuación 8, M_1 describe una propiedad elastomecánica del material, mientras que en la Ecuación 9, M_2 describe una propiedad viscoelástica del material. Por consiguiente, midiendo el desplazamiento de frecuencia f_B de una de las bandas laterales (ya sea, bien la de Stokes o bien la de anti-Stokes) de un haz de luz dispersado Brillouin retrodispersado desde un material (también conocido como haz de señal Brillouin) en respuesta a un haz incidente (también conocido como haz de muestra Brillouin), se puede determinar una propiedad elastomecánica del material. Además, midiendo también el ancho de línea Δf_B de la banda lateral, se puede determinar una propiedad viscoelástica del material.

30 Además de la dispersión Brillouin, las señales de SHG de la córnea humana se han asociado con la posición y distribución de las fibrillas en la córnea. SHG se refiere a la emisión no lineal de segundo orden de fotones en media longitud de onda por un material en respuesta a la excitación en longitud de onda completa, como se indica en la Ecuación 10.

$$\lambda_{SHG} = \lambda_1 / 2 \quad \text{Ecuación 10}$$

35 En la ecuación 10, λ_{SHG} es la longitud de onda de la señal de SHG en un haz de señal de SHG y λ_1 es la longitud de onda del haz de excitación (también conocido como un haz de muestra de SHG).

40 La excitación para las señales de SHG de la córnea humana se puede realizar utilizando un láser de fibra-fs enfocado en una ubicación de muestreo deseada para la recolección espacial precisa de señales de SHG que se pueden utilizar para generar imágenes de bio-estructuras corneales. En algunas realizaciones, el área de excitación puede ser del orden de unos pocos micrones cuando recoge señales de SHG desde la córnea humana. Las fibrillas en la córnea están compuestas de colágeno, que se sabe que es una fuente de señal de SHG no lineal muy eficaz. Además, la interacción no lineal del haz de excitación con las fibrillas de colágeno de la córnea depende de la posición, orientación, densidad y alineación de las fibrillas de colágeno, lo que puede dar como resultado que la

45 la señal de SHG proporcione información importante sobre la condición bio-estructural de diversos tejidos corneales.

Para la formación de imágenes *in vivo*, las señales de SHG hacia atrás (B-SHG) pueden obtenerse desde la córnea humana. El haz de señal de B-SHG puede emitirse en una dirección aproximadamente paralela al haz de muestra de SHG incidente y puede ser detectado por cualquier sistema de detección óptica adecuado. En algunas realizaciones, se puede usar un tubo fotomultiplicador (PMT) como detector de SHG para aplicaciones de formación de imágenes de alta sensibilidad utilizando señales de B-SHG. En algunas realizaciones, un detector de placa multicanal, que es similar a un PMT pero que proporciona una resolución espacial adicional utilizando una pluralidad de canales separados, puede utilizarse como el detector de SHG. El detector de SHG puede estar equipado con un filtro óptico para discriminar la longitud de onda λ_{SHG} del haz de medición que regresa desde el material muestreado. Cuando se utiliza un PMT o un fotodetector similar, se puede seleccionar un material de fotocátodo para una sensibilidad deseada a la longitud de onda λ_{SHG} . Además, en algunos casos, la polarización del haz de muestra de SHG puede emplearse para una selectividad adicional a los modos de emisión particulares del material de muestreo. Los modos de emisión sensibles a la polarización pueden estar relacionados con las características morfológicas de las fibrillas de colágeno cuando el material de muestreo es tejido corneal humano. Cuando el haz de muestra de SHG está polarizado, el detector de SHG también puede incluir un filtro de polarización para discriminar diversas orientaciones de polarización en el haz de señal de SHG.

Con referencia ahora a los dibujos, la fig. 1 es un diagrama de bloques que muestra un instrumento óptico 100 para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular. El instrumento óptico 100 no está dibujado a escala, sino que es una representación esquemática. Como se muestra, el instrumento óptico 100 se utiliza para analizar la muestra 112, que puede representar un ojo humano, y en particular, para analizar una córnea 114 del ojo humano. También, en el instrumento óptico 100, el sistema 120 de coordenadas define una dirección axial en Z y direcciones laterales en X e Y, que son relativas a la muestra 112, de tal manera que el haz 130 de muestra de SHG y el haz 131 de muestra Brillouin se propagan hacia la muestra 112 en la dirección axial Z. En consecuencia, el instrumento óptico 100 permite por consiguiente la captura simultánea de ambas señales Brillouin y de SHG procedentes de la muestra 112 utilizando un proceso de medición que está espacialmente correlacionado. De esta manera, el instrumento óptico 100 puede permitir un análisis y medición mejorados de ciertas propiedades físicas del tejido ocular en la muestra 112 en muchas aplicaciones de diagnóstico y clínicas.

Como se muestra, el instrumento óptico 100 incluye una fuente 102 de SHG a partir de la cual se genera el haz 130 de muestra de SHG. Cuando la fuente 102 de SHG es un láser de fibra-fs, la longitud de onda λ_l puede ser de 1030 nanómetros (nm) en realizaciones particulares, y la longitud de onda λ_{SHG} puede corresponder a 515 nm. El instrumento óptico 100 incluye además una fuente 104 Brillouin a partir de la cual se genera un haz 132 de muestra Brillouin. La fuente 104 Brillouin puede ser cualquier fuente de luz de banda estrecha adecuada para la dispersión Brillouin en el tejido ocular. En algunas realizaciones, la fuente 104 Brillouin es un láser de onda continua de modo único que tiene una longitud de onda de 532 nm y un ancho de línea de aproximadamente 1 MHz. La fuente 102 de SHG y la fuente 104 Brillouin pueden posicionarse para ser confocales con respecto a la muestra 112 en la posición 116 de foco, que puede ajustarse utilizando la lente 124 de enfoque.

En la fig. 1, el haz 130 de muestra de SHG y el haz 132 de muestra Brillouin se combinan en una única trayectoria óptica en el espejo parcial 110-1. El haz combinado del haz 130 de muestra de SHG y el haz 132 de muestra Brillouin se pueden modular espacialmente en el plano X-Y utilizando el escáner 118, con el fin de escanear diversas ubicaciones en la muestra 112. Por consiguiente, el escáner 118 puede modular la posición 116 de foco en el plano X-Y para tomar muestras de varias ubicaciones en la muestra 112, tales como diferentes áreas de interés en la córnea 114. Procedente del escáner 118, el haz combinado del haz 130 de muestra de SHG y del haz 132 de muestra Brillouin puede propagarse a la muestra 112 en el espejo parcial 110-2, a través de la lente 124 de enfoque. La lente 124 de enfoque puede ajustarse en el eje Z utilizando cualquier mecanismo adecuado para variar una posición 116 de foco a lo largo del eje Z. Así, en la realización mostrada en la fig. 1, el haz 130 de muestra de SHG y el haz 132 de muestra Brillouin se propagan a la muestra 112 a lo largo de una trayectoria óptica común desde el espejo parcial 110-1, que sirve como un punto de inicio óptico común tanto para el haz 130 de muestra de SHG como para el haz 132 de muestra Brillouin.

Desde el espejo parcial 110-2 hacia la muestra 112, el haz combinado del haz 130 de muestra de SHG y del haz 132 de muestra Brillouin puede propagarse a la muestra 112 en una dirección normal o sustancialmente normal a una superficie de la muestra 112. En la medida en que el haz combinado tenga un cierto ancho de haz, la lente 124 de enfoque puede agrupar el haz 130 de muestra de SHG y el haz 132 de muestra Brillouin en un área de muestra deseada en la posición 116 de foco. A continuación, un haz combinado de haz 131 de señales de SHG y haz 133 de señales Brillouin puede retrodispersarse desde la muestra 112 hacia el espejo parcial 110-2. Se observa que la geometría de muestreo representada en el instrumento óptico 100 es ejemplar y puede modificarse en diferentes realizaciones.

Desde el espejo parcial 110-2 hacia el espejo parcial 110-3, el haz combinado del haz 131 de señales de SHG y del haz 133 de señales Brillouin puede propagarse a través de la abertura 122. La abertura 122 puede estar dispuesta de forma confocal con respecto al haz 131 de señales de SHG y al haz 133 de señales Brillouin. La abertura 122 se puede utilizar para limitar los fotones en el haz 131 de señales de SHG y en el haz 133 de señal Brillouin a un ángulo de escaneo particular, por ejemplo, dependiendo del escáner 118. Por consiguiente, la abertura 122 puede ajustarse mecánicamente dependiendo del ángulo de escaneo utilizado por el escáner 118. En otras realizaciones, la lente 124 de enfoque se puede utilizar para centrar o alinear el haz 130 de muestra de SHG y el haz 132 de

muestra Brillouin, de tal manera que el haz 131 de señales de SHG y el haz 133 de señales Brillouin estén alineados con la abertura 122, por ejemplo, cuando la abertura 122 está fija.

5 En el espejo parcial 110-3, el haz 131 de señales de SHG puede ser dirigido al detector 106 de SHG mediante la lente 126 de detección, mientras que el haz 133 de señales Brillouin puede ser dirigido al detector 108 Brillouin mediante la lente 128 de detección. Ambas lentes 126 y 128 de detección pueden estar dispuestas de forma confocal con respecto al haz 131 de señales de SHG y al haz 133 de señales Brillouin. El detector 106 de SHG puede ser cualquier detector adecuado para el haz 131 de señales de SHG, tal como un PMT o un detector de placa multicanal, como se ha descrito anteriormente.

10 El detector 108 Brillouin puede incluir un espectrómetro de alta resolución adecuado para discriminar la dispersión de Rayleigh de la dispersión Brillouin. Ya que el haz dispersado de Rayleigh puede tener una amplitud significativamente mayor que el haz dispersado Brillouin y ambos haces dispersados pueden estar relativamente próximos entre sí espectralmente, el detector 108 Brillouin puede tener una resolución espectral alta y también un contraste espectral alto. En realizaciones particulares, el detector 108 Brillouin puede incluir una agrupación de dispositivos de carga acoplada (CCD) como un sensor óptico.

15 En el funcionamiento del instrumento óptico 100, el haz combinado del haz 130 de muestra de SHG y del haz 132 de muestra Brillouin puede propagarse de forma confocal a la posición 116 de foco, que puede modularse en el plano X-Y utilizando el escáner 118. La posición 116 de foco se puede modular en Z utilizando la lente 124 de enfoque. De esta manera, varios puntos, líneas, áreas y volúmenes en la muestra 112 pueden explorarse y analizarse utilizando el instrumento óptico 100.

20 En la posición 116 de foco, el haz 133 de señal Brillouin puede medirse con el detector 108 Brillouin. Específicamente, el detector 108 Brillouin puede medir el desplazamiento de frecuencia f_B de una (o ambas) de las bandas laterales (bien de Stokes o bien de anti-Stokes) en el haz 133 de señal Brillouin. El detector 108 Brillouin también puede medir el ancho de la línea Δf_B de una o ambas bandas laterales. Con el desplazamiento de frecuencia medido f_B y el ancho de línea medido Δf_B , se pueden determinar una propiedad elastomecánica y una
 25 propiedad viscoelástica en la posición 116 de foco, como se ha explicado anteriormente con respecto a las ecuaciones 8 y 9.

Simultáneamente y desde la misma posición 116 de foco, el haz 131 de señales de SHG se puede medir con el detector 106 de SHG. Específicamente, el detector 106 de SHG puede registrar una amplitud de señal de la longitud de onda λ_{SGH} en el haz 131 de señal de SHG. En particular, el detector 106 de SHG puede ser sensible a pequeñas
 30 amplitudes en la longitud de onda λ_{SGH} . Ya que la amplitud de la señal de la longitud de onda λ_{SGH} es indicativa de una estructura morfológica de las fibrillas de colágeno en la posición 116 de foco, la amplitud de señal registrada por el detector 106 de SHG puede utilizarse para generar ciertas imágenes de tejido ocular en la muestra 112. La información de imagen generada por el detector 106 de SHG de esta manera puede ser espacialmente correlacionada con precisión con la propiedad elastomecánica y la propiedad viscoelástica en la posición 116 de
 35 foco. Los datos resultantes generados por el instrumento óptico 100 pueden proporcionar una comprensión y análisis más completos de un estado de la muestra 112 en la posición 116 de foco, y permitir el diagnóstico biomecánico precoz de diversas enfermedades oculares.

Se observa que, en diversas realizaciones o disposiciones del instrumento óptico 100, se pueden utilizar diferentes implementaciones, diseños y desviaciones de haces. Por ejemplo, ciertas partes de las trayectorias ópticas
 40 utilizadas en el instrumento óptico 100 pueden incluir fibras ópticas. En algunas realizaciones, ciertas partes de las trayectorias ópticas utilizadas en el instrumento óptico 100 pueden incluir guías de onda ópticas. Ciertas partes de las trayectorias ópticas utilizadas en el instrumento óptico 100 pueden representar trayectorias ópticas dentro de un medio, tal como el vacío, el espacio libre, un entorno gaseoso o la atmósfera. En realizaciones dadas, se puede utilizar un elemento de polarización con al menos uno de entre el haz 130 de muestra de SHG y el haz 132 de
 45 muestra Brillouin, y se puede utilizar un filtro de polarización cuando se detecta al menos uno del haz 131 de señales de SHG y del haz 133 de señales Brillouin. En otra disposición, el escáner 118 puede ser omitido y se puede utilizar otro elemento de escaneado, tal como un objetivo. En realizaciones particulares, al menos una porción de los componentes ópticos incluidos con el instrumento óptico 100 se pueden miniaturizar y combinar en una unidad compacta que tenga una masa y dimensiones externas relativamente pequeñas, de tal manera que la unidad compacta completa pueda contenerse en un elemento de escaneado externo y se mueva con respecto a la muestra
 50 112. También, se pueden utilizar diferentes orientaciones del sistema 120 de coordenadas en ciertas realizaciones del instrumento óptico 100.

En diversas realizaciones, se puede utilizar un instrumento óptico 100 para caracterizar o analizar bio-estructuras de la capa intra-corneal, tales como fibrillas o micro-fibrillas en el estroma corneal humano.

55 Se observa que el instrumento óptico 100 no está dibujado a escala sino que es una representación esquemática. Se pueden realizar modificaciones, adiciones u omisiones al instrumento óptico 100 sin desviarse del alcance de la descripción. Los componentes y elementos del instrumento óptico 100, como se describe en la presente memoria, pueden integrarse o separarse de acuerdo con aplicaciones particulares. Además, las operaciones del instrumento óptico 100 pueden realizarse con más, menos u otros componentes.

Con referencia ahora a la fig. 2, se representa en forma de diagrama de flujo, un diagrama de bloques de elementos seleccionados de una realización de un método 200 para efectuar el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular, como se describe en la presente memoria. El método 200 puede implementarse mediante un instrumento óptico 100 (véase la fig. 1). Se observa que ciertas operaciones descritas en el método 200 pueden ser opcionales o pueden disponerse de nuevo en diferentes realizaciones.

El método 200 comienza en la etapa 202 generando un primer haz de muestra y un segundo haz de muestra que comparten un punto de inicio óptico. En la etapa 204, el primer haz de muestra y el segundo haz de muestra se propagan a una muestra de tejido biológico de manera confocal a una posición focal en la muestra de tejido biológico. En la etapa 206, se detecta un primer haz de señal que comprende primeros fotones retrodispersados por el primer haz de muestra desde la posición focal utilizando un detector de dispersión Brillouin. En la etapa 208, se detecta un segundo haz de señal que comprende segundos fotones retrodispersados por el segundo haz de muestra desde la posición focal utilizando un detector de generación de segundo armónico (SHG). En la etapa 210, se determina una propiedad elastomecánica y una propiedad viscoelástica de la muestra de tejido biológico en la posición focal a partir del primer haz de señal. En la etapa 212, se determina una indicación de una estructura morfológica de la muestra de tejido biológico en la posición focal a partir del segundo haz de señal.

Con referencia ahora a la fig. 3, se representa en forma de diagrama de flujo un diagrama de bloques de elementos seleccionados de una realización de un método 300 para efectuar un diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular, como se describe en la presente memoria. El método 300 puede implementarse mediante un instrumento óptico 100 (véase la fig. 1). En realizaciones particulares, el método 300 puede incluir detalles adicionales con respecto a la etapa 204 en el método 200. Se observa que ciertas operaciones descritas en el método 300 pueden ser opcionales o pueden disponerse de nuevo en diferentes realizaciones.

El método 300 comienza en la etapa 302 variando una posición axial de la posición focal dentro de la muestra de tejido biológico a lo largo de un primer eje paralelo al primer haz de muestra y al segundo haz de muestra. En la etapa 304, una posición lateral de la posición focal se varía dentro de la muestra de tejido biológico a lo largo de al menos uno de entre un segundo eje y un tercer eje que son perpendiculares al primer eje. En la etapa 306, la muestra de tejido biológico se escanea para generar datos de imagen utilizando el segundo haz de señal, de tal manera que tanto el primer haz de muestra como el segundo haz de muestra se dirigen a diferentes posiciones comunes en la muestra de tejido biológico, e incluyendo la variación de al menos una de entre la posición axial de la posición focal y la posición lateral de la posición focal.

Como se describe en la presente memoria, un método y sistema para realizar el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular puede incluir una fuente de luz Brillouin para generar un haz de muestra Brillouin y una fuente de luz de generación de segundo armónico (SHG) para generar un haz de muestra de SHG. Tanto el haz de muestra Brillouin como la muestra de SHG pueden dirigirse de forma coincidente a una muestra de tejido biológico de manera confocal a una posición focal. Se puede detectar la dispersión Brillouin resultante del haz de muestra Brillouin para determinar una propiedad elastomecánica y una propiedad viscoelástica de la muestra. Se puede detectar la dispersión de SHG resultante del haz de SHG para determinar una indicación de una estructura morfológica de la muestra. La muestra puede ser una córnea humana *in vivo*.

El método 200 de la fig. 2 y el método 300 de la fig. 3 pueden realizarse utilizando un ordenador programado para generar o controlar la ubicación, intensidad u otras propiedades de los haces de muestra y para procesar los haces de señales detectados. En algunas realizaciones, tal ordenador programado puede ser parte del instrumento óptico 100 mostrado en la fig. 1. En algunas realizaciones, el ordenador programado se puede conectar al instrumento óptico 100 de forma cableada o inalámbrica para realizar al menos ciertas partes de los métodos 200 o 300. El ordenador programado puede incluir componentes de propósito especial, tales como componentes integrales con la fuente 102 de SHG, la fuente 104 Brillouin, la lente 124 de enfoque, el espejo parcial 110, el escáner 118, el detector 106 de SHG, el detector 108 Brillouin y la abertura 122. Por ejemplo, el ordenador programado puede incluir, o puede controlar, uno o más interruptores que cambian el estado de uno o más de los componentes anteriores en respuesta a los haces de señales detectados. Por ejemplo, cuando los haces de señales no están enfocados, el ordenador programado puede utilizar uno o más interruptores o, de lo contrario, puede provocar un cambio en la posición o el tamaño de la lente 124 de enfoque, del espejo parcial 110 o de la abertura 122. En otro ejemplo, que no es exclusivo del primer ejemplo, cuando los haces de señales no tienen la intensidad correcta, el ordenador programado puede utilizar uno o más interruptores o, de lo contrario, puede provocar un cambio en la fuente 102 de SHG o en la fuente 104 Brillouin.

El procesamiento de haces de señales detectados puede incluir aspectos dirigidos a generar o controlar la ubicación, intensidad u otras propiedades de los haces de muestra y aspectos dirigidos para generar información con respecto a una propiedad biomecánica de la muestra de tejido biológico. Por ejemplo, algún procesamiento puede generar una advertencia cuando uno o más aspectos de los haces de señales no son sabios. Algún procesamiento puede generar una presentación visual reflectante de la propiedad biomecánica. Tal presentación puede generarse en tiempo real, o después de algún retardo, particularmente cuando se incluyen las propiedades biomecánicas de diferentes ubicaciones en la muestra de tejido biológico.

5 El ordenador programado puede incluir más de un ordenador que pueden o no estar en comunicación entre sí. Por ejemplo, un ordenador puede recibir datos con respecto a los haces de señales detectados y utilizar los datos para generar o controlar la ubicación, intensidad u otras propiedades de los haces de muestra, mientras que un ordenador separado puede recibir datos con respecto a los haces de señales detectados y utilizar la información para generar Información sobre una propiedad biomecánica de la muestra de tejido biológico.

10 Con referencia ahora a la fig. 4, se presenta un diagrama de bloques que ilustra elementos seleccionados de una realización de un sistema 400 de procesamiento de señales. En la realización representada en la fig. 4, el sistema 400 de procesamiento de señales incluye el dispositivo 402 informático, que está acoplado al detector 108 Brillouin y al detector 106 de SHG, mientras que el dispositivo 402 informático incluye un procesador 404 acoplado mediante el bus 406 compartido a los medios de memoria identificados colectivamente como memoria 410. Como se muestra, el sistema 400 de procesamiento de señales puede estar incluido con el instrumento óptico 100 en la fig. 1 para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular, como se describe en la presente memoria.

15 En diversas realizaciones, el dispositivo 402 informático puede incluir un adaptador de red para conectarse a una red. El dispositivo 402 informático puede incluir un adaptador periférico para conectarse a varios dispositivos de entrada y salida. Por ejemplo, el dispositivo 402 informático puede comunicarse con el detector 108 Brillouin y el detector 106 de SHG mediante un dispositivo de entrada para recibir señales de salida para el diagnóstico biomecánico de una enfermedad ocular, como se describe en la presente memoria. El dispositivo 402 informático también puede comunicarse con el detector 108 Brillouin, el detector 106 de SHG u otros componentes, mediante un dispositivo de salida para controlar diversos aspectos del instrumento óptico 100.

20 La memoria 410 puede representar cualquiera de una variedad de medios de memoria persistente, medios de memoria volátil, medios de memoria fija y medios de memoria extraíble, entre otros. La memoria 410 puede ser hecha funcionar para almacenar instrucciones, datos o ambos. Como se muestra, la memoria 410 almacena instrucciones o código ejecutable por el procesador 404, a saber, un sistema operativo (OS) 412 y una aplicación 414 de diagnóstico de enfermedad ocular. El sistema operativo 412 puede ser un sistema operativo UNIX o similar a UNIX, un sistema operativo de la familia Windows® y un sistema operativo integrado, u otro sistema operativo adecuado. La aplicación 414 de diagnóstico de enfermedad ocular puede representar instrucciones o código ejecutable por el procesador 404 para implementar al menos ciertas partes de los métodos 200 y 300 y la funcionalidad asociada, como se ha descrito anteriormente.

30 Se ha de considerar el objeto descrito anteriormente es ilustrativo y no restrictivo, y las reivindicaciones adjuntas pretenden cubrir todas las modificaciones, mejoras y otras realizaciones que caen dentro del alcance de la presente descripción. Así, a la extensión máxima permitida por la ley, el alcance de la presente descripción ha de ser determinado mediante la interpretación más amplia permisible de las siguientes reivindicaciones y no estará restringido ni limitado por la anterior descripción detallada.

35

REINVINDICACIONES

- 1.- Un método (200) para un examen óptico de tejido ocular, que comprende:
 generar un primer haz (132) de muestra;
 5 propagar el primer haz de muestra a una muestra (112) de tejido biológico a una posición (116) focal en la muestra de tejido biológico;
 detectar un primer haz (133) de señales que comprende primeros fotones retrodispersados por el primer haz de muestra desde la posición focal, en donde el primer haz de señal es detectado utilizando un detector (108) de dispersión Brillouin;
 caracterizado por que el método comprende además:
 10 generar un segundo haz (130) de muestra, en donde el primer y segundo haces de muestra comparten un punto de inicio óptico;
 propagar el segundo haz de muestra de una manera confocal con el primer haz de muestra a la posición focal; y
 15 detectar un segundo haz (131) de señales que comprende segundos fotones retrodispersados por el segundo haz de muestra desde la posición focal, en donde el segundo haz de señal es detectado utilizando un detector (106) de generación de segundo armónico (SHG).
- 2.- El método de la reivindicación 1, en donde la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal incluye la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a lo largo de un trayecto óptico común.
- 3.- El método de la reivindicación 1 o 2, en donde:
 20 el primer haz de muestra es generado utilizando un láser de onda continua de banda estrecha;
 el segundo haz de muestra es generado utilizando un láser de fibra de femtosegundo;
 el detector de dispersión Brillouin incluye un espectrómetro; y
 el detector de SHG incluye un fotocátodo sensible al segundo haz de señal.
- 4.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el primer haz de señal incluye fotones dispersados de Rayleigh y fotones dispersados Brillouin procedentes de la posición focal, y el segundo haz de señal incluye fotones a una semi-longitud de onda de una longitud de onda del segundo haz de muestra.
- 5.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la muestra de tejido biológico es tejido biológico *in vivo* que comprende una parte de un ojo humano.
- 6.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además:
 30 determinar (210), a partir del primer haz de señal, una propiedad elasto-mecánica de la muestra de tejido biológico en la posición focal;
 determinar (210), a partir del primer haz de señal, una propiedad viscoelástica de la muestra de tejido biológico en la posición focal; y
 35 determinar (212), a partir del segundo haz de señal, una indicación de una estructura morfológica de la muestra de tejido biológico en la posición focal.
- 7.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal incluye:
 variar (302) una posición axial de la posición focal dentro de la muestra de tejido biológico a lo largo de un primer eje paralelo al primer haz de muestra y al segundo haz de muestra.
- 40 8.- El método de la reivindicación 7, en donde la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal incluye:
 variar (304) una posición lateral de la posición focal dentro de la muestra de tejido biológico a lo largo de al menos uno de entre un segundo eje y un tercer eje que son perpendiculares al primer eje.
- 45 9.- El método de la reivindicación 8, en donde la propagación del primer haz de muestra y del segundo haz de muestra a la muestra de manera confocal incluye:

escanear (306) la muestra de tejido biológico para generar datos de imagen utilizando el segundo haz de señal, en donde tanto el primer haz de muestra como el segundo el haz de muestra se dirigen a diferentes posiciones comunes en la muestra de tejido biológico, en donde el escaneado comprende variar al menos una de entre la posición axial de la posición focal y la posición lateral de la posición focal.

5 10.- Un instrumento óptico (100) para realizar un diagnóstico biomecánico de enfermedad ocular, que comprende:

una primera fuente de luz (104) para generar un primer haz (132) de muestra;

un detector (108) de dispersión Brillouin que incluye un espectrómetro para recibir un primer haz (133) de señales que comprende primeros fotones retrodispersados por el primer haz de muestra desde una posición (116) focal en una muestra (112) de tejido biológico,

10 caracterizado por que el instrumento óptico comprende además:

una segunda fuente de luz (102) para generar un segundo haz (130) de muestra;

un primer espejo parcial (110-1) para superponer el primer haz de muestra y el segundo haz de muestra para generar un haz de muestra combinado; y

15 un detector SHG (106) de generación de segundo armónico, que incluye un fotocátodo sensible a una segundo haz (131) de señales que comprende segundos fotones retrodispersados mediante el segundo haz de muestra desde la posición focal.

11.- El instrumento óptico de la reivindicación 10, que comprende además un segundo espejo parcial (110-2) para:

propagar el haz de muestra combinado a la posición focal de manera confocal; y

20 propagar un haz de señal combinado que comprende el primer haz de señal y el segundo haz de señal desde la posición focal de manera confocal.

12.- El instrumento óptico de la reivindicación 10 u 11, que comprende además:

un elemento (124) de enfoque para variar una posición axial de la posición focal en la muestra de tejido biológico de manera confocal a lo largo de un primer eje paralelo al haz de muestra combinado,

25 un elemento (118) de escaneado para variar una posición lateral de la posición focal en la muestra de tejido biológico de manera confocal a lo largo de al menos uno de entre un segundo eje y un tercer eje que son perpendiculares al primer eje,

en donde

al menos uno del elemento de enfoque y del elemento de escaneado sirven para:

30 escanear la muestra de tejido biológico para generar datos de imagen utilizando el segundo haz de señal, en donde tanto el primer haz de muestra como el segundo haz de muestra se dirigen a diferentes posiciones comunes en la muestra de tejido biológico, incluyendo la variación de al menos una de la posición axial de la posición focal y la posición lateral de la posición focal.

13.- El instrumento óptico de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en donde:

la primera fuente de luz comprende un láser de onda continua de banda estrecha;

35 la segunda fuente de luz comprende un láser de fibra de femtosegundo;

el detector de dispersión Brillouin incluye un espectrómetro; y

el detector de SHG incluye un fotocátodo sensible al segundo haz de señal.

40 14.- El instrumento óptico de cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en donde el primer haz de señal incluye fotones dispersados de Rayleigh y fotones dispersados Brillouin desde la posición focal, y el segundo haz de señal incluye fotones a semi-longitud de onda de una longitud de onda del segundo haz de muestra. .

15.- El instrumento óptico de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en donde:

el detector de dispersión Brillouin sirve para:

determinar, a partir del primer haz de señal, una propiedad elasto-mecánica del tejido biológico en la posición focal; y

45 determinar, a partir del primer haz de señal, una propiedad viscoelástica del tejido biológico en la posición focal; y

el detector de SHG sirve para determinar, a partir del segundo haz de señal, una indicación de una estructura morfológica de la muestra de tejido biológico en la posición focal.

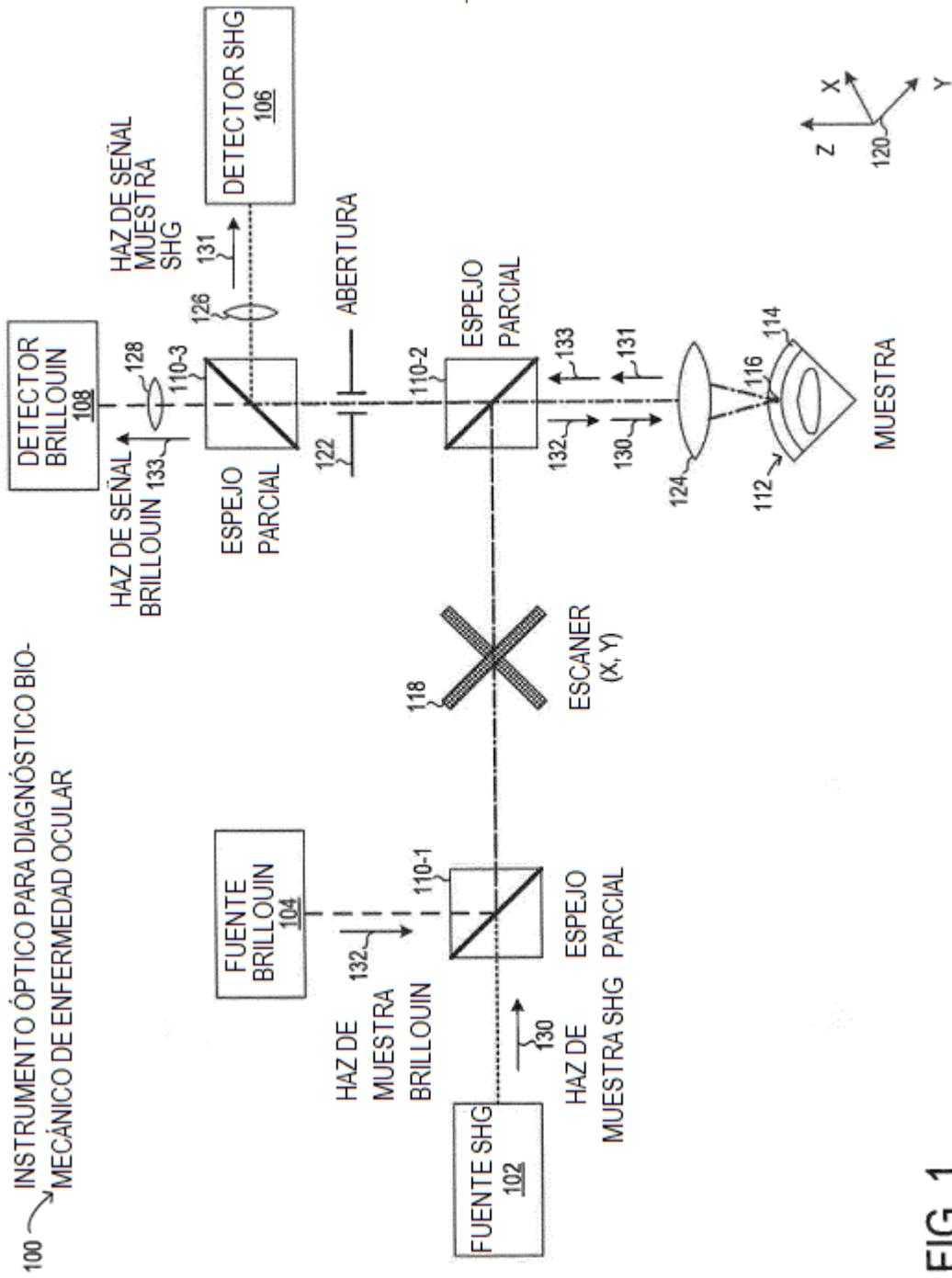


FIG. 1

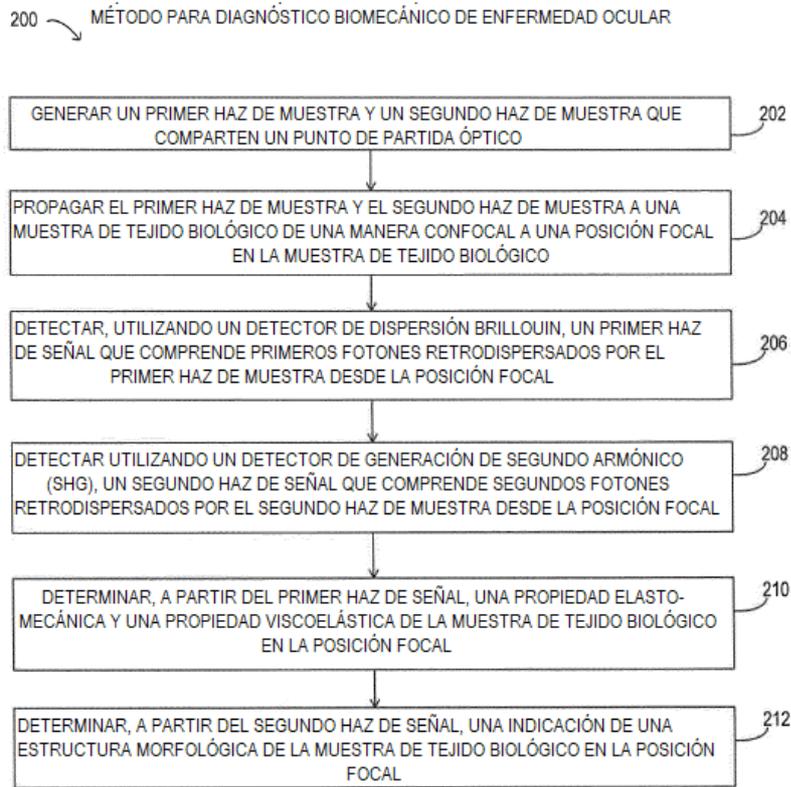


FIG. 2

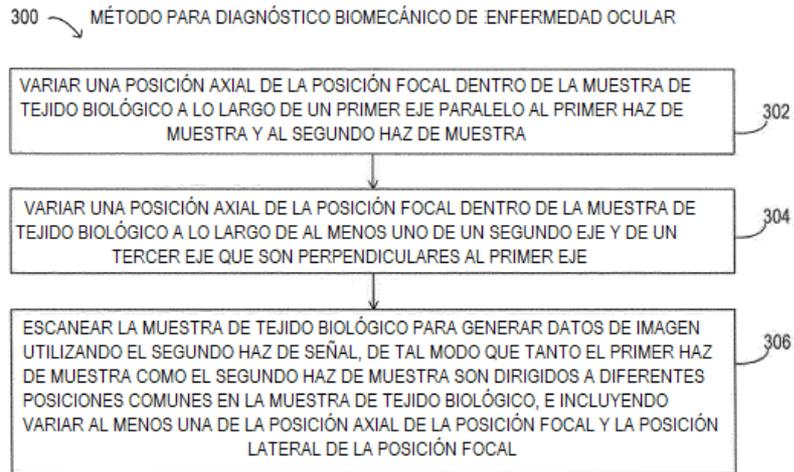


FIG. 3

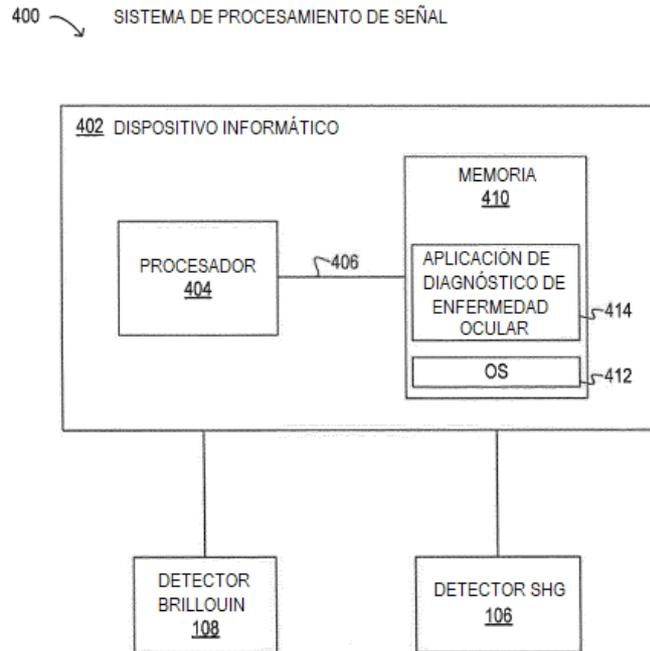


FIG. 4